Coccidiose intestinale a Cyclospora viperae *chez la couleuvre vipérine, la Couleuvre lisse et la Couleuvre a échelons,*

par Mme M. Phisalix.

J'ai précédemment décrit le cycle évolutif complet d'une Coccidie du genre Cyclospora, rencontrée d'abord chez la Vipère aspic, et que, pour ces raisons, j'ai nommée *Cyclospora Viperæ* (1, 2).

Par la suite, l'examen comparatif des Coccidies que j'ai trouvées chez d'autres Serpents, m'a montré que, s'il se produit quelques légères variantes dans les dimensions des corps à mérozoïtes, l'ookyste est invariable dans sa forme, ses dimensions et son contenu; ainsi les espèces *Vipera berus* Lin., *Cœlopeltis monspessulana* Hermann, *Coluber Esculapii* Lacépède, *Zamenis viridiflavus* Lacépède et *Tropidonotus natrix* Lin., sont infectées par la même Coccidie que *Vipera aspis* (3 à 6).

Ce n'est pas tout : trois autres espèces de nos Couleuvres, plus récemment examinées : *Tropidonotus viperinus* Latreille, *Coronella Austriaca* Laurenti, et *Coluber scalaris* Schinz, sont pareillement envahies; soit en tout 9 espèces sur 11, qui composent la faune ophidienne de France.

Les deux espèces restantes *Vipera Ursinii* Bonaparte, et *Coronella Girondica* Daudin, n'ont pu être encore suffisamment examinées en raison de leur rareté en France.

Une dissémination aussi ample de la Coccidie chez des espèces dont l'habitat, les mœurs, l'alimentation sont si variés, le pourcentage élevé de l'infection, qui n'est jamais inférieur à 75 et peut même atteindre 100, le développement simultané chez la plupart des adultes des deux modes de multiplication de la Coccidie, la chronicité de l'infection à partir de l'invasion, la facilité enfin de se procurer et de conserver en captivité les unes ou les autres des espèces, font que nos Serpents indigènes constituent un matériel précieux pour l'enseignement, car il permet, pendant toute l'année, de voir vivre et se développer cette coccidie.

Dans les quelques centaines d'individus d'espèces diverses que j'ai l'occasion d'examiner chaque année, même chez une quarantaine d'aspics capturés dans le département de l'Isère, je n'ai jamais rencontré que *Cyclospora Viperæ,* alors que chez des Vipères provenant des environs d'Uriage, M. L. Léger a trouvé et décrit en 1904 deux autres coccidies intestinales, *Caryospora simplex* et *Diplospora fragilis.*

En fait, si l'on en excepte quelques infusoires ciliés, habitants usuels du cloaque des adultes, la Vipère est, de tous nos Serpents, le moins envahi par les divers parasites, soit externes, soit internes, des Reptiles; elle est aussi une des plus résistantes aux essais d'infection expérimentale : je n'ai pu effectivement l'infecter en lui inoculant sous la peau et dans le péritoine des kystes ou du sang renfermant des hémogrégarines de Vipères d'autres espèces; par contre, j'ai pu infecter les Vipéreaux naissants, avec les kystes de la Coccidie des adultes, et saisir ainsi les détails de la première invasion.

Les formes de développement de *Cyclospora Viperæ,* ayant été suffisamment décrites et figurées dans des notes précédentes, je me bornerai dans celle-ci à signaler les particularités de l'infection chez les espèces récemment explorées, à rappeler les caractères de l'invasion, l'aspect et les dimensions du parasite, et à montrer l'allure chronique et bénigne de l'infection vis-à-vis des Serpents.

* * *

Des trois espèces qui font l'objet de cette note, c'est la *Couleuvre vipérine* qui se rapproche le plus de la Vipère-aspic quant au pourcentage élevé et à l'étendue sur place de l'infection : les 10 Vipérines examinées, 8 *Coronelles* sur 10, 3 *Couleuvres* à *échelons* sur 4, montraient toutes les formes de la Coccidie.

* * *

Première invasion. — Les Vipéreaux prélevés dans la mère ou examinés au moment de leur naissance sont indemnes de toute forme de la Coccidie. Ils peuvent être infectés expérimentalement en portant dans leur estomac, au moyen d'une sonde, une suspension dans l'eau des kystes mûrs trouvés dans les adultes. Dans la nature, l'invasion s'effectue dans les premiers mois de la vie libre; en captivité par cohabitation avec des adultes, dont les déjections qui contiennent les ookystes mûrs, souillent l'eau des récipients où ils boivent. C'est par l'eau généralement que se produit l'invasion des ookystes, avant même que les jeunes aient avalé aucune proie. Dans tous les cas, la période de première invasion est marquée, dans les cellules épithéliales de l'intestin, par l'existence, sur l'épithélium vu à plat, d'un fin piqueté, d'aspect finement granuleux. Ce piqueté, dont les éléments ont de 1 à 2 μ de diamètre, résulte de la pénétration de la cuticule épithéliale par les sporozoïtes, que la digestion dans l'estomac de la membrane des ookystes a mis en liberté. Tous ces petits corps restent un certain temps accolés à la face interne de la cuticule, ils y grossissent sous trois aspects

différents : les uns les plus nombreux et les plus apparents parce qu'ils forment des aires où toutes les cellules les contiennent, s'allongent en un fuseau à contenu finement granuleux et à noyau central : ce sont les *macrogamétocytes,* dont chacun donnera à maturation un *macrogamète* ou *ovule.* Les autres, en s'accroissant, restent sphériques, mais se distinguent aisément à l'état frais, tant par leur aspect que par leur contenu : ceux qui ont un contenu hyalin dans lequel sont éparses quelques granulations très réfringentes sont des *microgamétocytes,* ils donneront à maturation les gamètes mâles ou *microgamètes.*

Ceux qui sont remplis par des granulations assez grosses (2 μ) serrées les unes contre les autres et d'aspect terne, sont les *corps à mérozoïtes,* qui donnent les éléments de multiplication sur place de la Coccidie, les *mérozoïtes.*

Après fixation par l'alcool-éther et coloration au Giemsa, on voit dans ces divers éléments chaque noyau coloré en violet, le protoplasme en bleu, et ressortant en blanc pur, les vides laissés par la dissolution dans le fixateur, des granulations graisseuses. Ces réactions restant les mêmes au cours du développement, permettent d'en suivre de très près les phases.

*
* *

Cyclospora Viperæ effectue tout son développement à l'intérieur des cellules de l'épithélium intestinal : à maturation des ookystes, des corps à mérozoïtes, des microgamétocystes, le plus grand nombre occupant la région sous-corticulaire des cellules, font saillie, restent cependant encore quelque temps partiellement assises dans le protoplasme, puis se libèrent, tout en restant à la surface qu'elles revêtent, suivant les aires qu'elles occupaient. Souvent il y a abrasion de toute une aire de cellules, qui libèrent ensuite les parasites inclus. Pendant le jeûne hivernal, la lumière intestinale étant virtuelle, toutes les formes restent accolées à la paroi, celles qui sont mises en liberté par l'épanouissement des barillets, et la déhiscence des microgamétocytes, c'est-à-dire les mérozoïtes et les microgamètes rampent sur cette paroi en quête, les unes d'une cellule saine à parasiter, les autres d'un macrogamète à féconder.

Remarquons toutefois que certains éléments, des ookystes surtout, sont parfois refoulés vers la profondeur de l'épithélium lorsque le pavage superficiel est trop compact; ils gagnent alors l'espace conjonctivo-capillaire sous-jacent, où ils ont conquis une sépulture qui semble définitive, à moins de desquamation épithéliale.

C'est la partie sporogonique du cycle total qui présente la plus longue durée; elle débute à l'invasion même de l'épithélium par

les sporozoïtes, les jeunes macrogamétocytes dominant les autres formes; elle termine l'infection quand celle-ci est simple, car il arrive parfois que l'on ne rencontre plus que des ookystes, les mérozoïtes ayant cessé de réinfecter l'intestin.

L'évolution de la Coccidie étant la plupart du temps lente et continue, affectant une allure chronique, c'est la période de jeûne hivernal, qui est la plus favorable à l'observation des formes mobiles, et même des formes incluses, car l'intestin est au repos physiologique, à la diète hydrique, s'il s'agit de serpents tenus en captivité, et ne contient, sauf dans la région cloacale, aucun résidu capable de troubler l'observation. Un simple lavage de l'intestin à l'eau salée physiologique ramène tout ce qui recouvre l'épithélium : corps à mérozoïtes que l'on peut voir s'épanouir et disperser les mérozoïtes, microgamétocytes, microgamètes libres, ookystes dont on peut voir les sporozoïtes tourner sur place dans la membrane qui les renferme.

*
* *

Schizogonie. — Alors que chez la plupart des Coccidies, à une même catégorie d'ookystes, correspond une seule forme de mérozoïtes, chez *Cyclospora Viperæ,* on en trouve constamment au moins trois. Les corps à mérozoïtes sont de forme générale sphérique, quelquefois un peu surbaissée. Ils mesurent respectivement suivant leur grand axe 4 µ 2 à 6,3, 8 µ 4 et 13 à 15 µ.

A leur maturité, les mérozoïtes, en lesquels ils se divisent intégralement, sont orientés régulièrement en barillets, dont les éléments s'étalent, non sans quelques oscillations et tiraillements, puis se dispersent isolément ou par petits groupes. Par le colorant de Giemsa, on voit le noyau de chaque mérozoïte se colorer en violet, le protoplasme uniformément en bleu clair; ce dernier ne contient pas d'inclusions.

Les corps à mérozoïtes ne diffèrent pas seulement par la taille, mais aussi par la forme et le nombre des mérozoïtes qu'ils produisent.

Les plus petits barillets s'étalent en une rosace de 4 à 6 mérozoïtes ayant la forme d'une petite poire de 4 µ 5 de long; le noyau est situé dans la portion renflée. Les moyens s'ouvrent en 6 à 8 mérozoïtes ayant la forme d'un petit croissant trapu de 6 µ 3 de long, et à noyau central. Les plus gros donnent de 12 à 18 mérozoïtes, en croissant aminci de 8 µ 4 à 10 µ 5 de long, et à noyau central.

Tous ces vermicules sont un peu aplatis, et les deux derniers incurvés sur leur plus large face : Suivant le côté sous lequel ils se présentent, leur diamètre moyen varie de 1 µ 2 à 2 µ 1. Il existe parfois une quantité énorme de ces mérozoïtes qui, après épanouis-

sement de leur barillet, laissent à l'extrémité par laquelle ils étaient tous retenus, un petit cercle nuageux et incolore.

Sporogonie. — Les formes les plus nombreuses du cycle sexué sont les macrogamèttocyes, qui ne donneront chacun qu'un macrogamète ou ovule. Ils forment sur la muqueuse intestinale des plages plus ou moins étendues, des pavages continus. Au stade voisin de la conjugaison, leur membrane mince est perméable aux colorants et aux fixateurs, qui en dissolvent les granulations graisseuses, ce qui permet d'en voir nettement le noyau.

Lorsque l'ookyste est définitivement constitué, il mesure 16 μ 8 de long sur 10 μ 5 de diamètre. Le travail intérieur y aboutit à la segmentation en 2 sporoblastes ovoïdes mesurant 10 μ 5 de long sur 8 μ 4 de large. Dans l'intérieur de chacun d'eux se différencient 2 sporozoïtes, disposés tête-bêche sur un reliquat granuleux. L'un des bouts est aminci; ils sont pourvus d'un noyau arrondi central, et mesurent chacun 8 μ 4 de long sur un diamètre maximum de 2 μ.

Pour les observer en liberté, il suffit d'examiner, après une dizaine d'heures, le contenu stomacal du Vipéreau nouveau-né, ayant reçu un repas d'ookystes mûrs, car ceux-ci n'éclosent jamais dans le milieu intestinal du sujet qui les a élaborés. Au cours de son accroissement, le jeune microgamétocyste conserve la minceur, la souplesse et la perméabilité de sa membrane; le noyau se divise, et les bipartitions répétées aboutissent à la formation d'une quarantaine au moins de noyaux de forme irrégulière, qui se portent à la périphérie. A maturité complète, le microgamétocyste atteint et peut dépasser 30 et 20 μ suivant ses deux axes. Les granulations réfringentes qu'il montrait au début ont été peu à peu utilisées. Lorsque la condensation protoplasmique s'est effectuée autour des noyaux, les microgamètes qui en résultent occupent toujours une position périphérique. Ils ont alors la forme de petits vermicules légèrement aplatis, ayant l'une des extrémités incurvée sur la plus large face, l'autre amincie. Ils mesurent 8 μ 4 de long sur 1 μ 2 à 2,4 de diamètre moyen. Ils se distinguent aisément des mérozoïtes de même longueur par la position excentrique de leur noyau qui, refoulé vers l'extrémité amincie, semble parfois terminal, et aussi par les granulations chromatiques que renferme toujours sa moitié la plus large.

La conjugaison des gamètes et la maturation de l'ookyste s'effectuent sur place dans les cellules épithéliales, et les ookystes mûrs expulsés par éclatement forment souvent un revêtement plus ou moins continu à la surface de la muqueuse temporairement desquamée.

***

Malgré l'infection, parfois étendue et souvent chronique, que détermine *Cyclospora Viperæ*, je n'ai jamais observé qu'elle rétentisse sur l'état général des sujets parasités : pendant la période active de la vie du Serpent, du milieu de mars au début de novembre, son appétit n'est pas amoindri, et sa sécrétion gastrique intacte suffit à son régime carnivore; pendant la période hivernale, il n'use pas plus vite sa réserve de graisse périviscérale que le rare sujet non parasité. La Coccidie se comporte donc comme un parasite économe et discret; l'hypertrophie des parois intestinales n'est pas constante; mais on note à peu près toujours une hyperémie légère de l'intestin. On n'a pas encore signalé d'émission de toxines par les Coccidies; mais *Cyclospora Viperæ* en secrèterait-elle, que le milieu humoral, à la fois toxique et antitoxique des Serpents, ne permettrait guère de la déceler autrement que par un amaigrissement, qu'on n'observe pas.

1. Mme PHISALIX. — Essai d'infection de la Vipère-aspic et des Couleuvres Tropidonotes par l'hémogrégarine de *Lachesis alternatus*. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXV, 1913, p. 110.

2. — — Coccidiose intestinale de la Vipère-aspic, à *Cyclospora Viperæ* nov. sp. *Bull. du Mus.*, 1923, t. 29, p. 585, figs.

3. — — Note complémentaire sur *Cyclospera Viperæ*. *Bull. du Mus.*, 1924, t. 30, p. 497. figs.

4. — — *Cyclospora zamenis*, Coccidie à localisation intestinale de *Zamenis viridiflavus* Lacep. *Bull. Mus.*, 1924, t. 30, p. 501.

5. — — *Cyclospora Babaulti*, Coccidie parasite de l'intestin de *Vipera berus*. *Bull. du Mus.*, 1925, t. 31, p. 96.

6. — — *Cyclospora tropidonoti*, Coccidie parasite de l'intestin de *Tropidonotus natrix*. *Id.*, p. 93.

7. — — *Cyclospora Viperæ*, Coccidie parasite de l'intestin de la Vipère-aspic, infecte également la Couleuvre d'Esculape et la Couleuvre de Montpellier. *Id.*, p. 423.